

**SENSIBILIDADE À DESSECAÇÃO EM
SEMENTES DE JAMBOLÃO (*Syzygium
cumini*) E CANELA-BATALHA
(*Cryptocarya aschersoniana*)**

REJANE ELIZE MUXFELDT

2008

REJANE ELIZE MUXFELDT

**SENSIBILIDADE À DESSECAÇÃO EM
SEMENTES DE JAMBOLÃO (*Syzygium
cumini*) E CANELA-BATALHA
(*Cryptocarya aschersoniana*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador
Prof. Ph.D. José Márcio Rocha Faria

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Muxfeldt, Rejane Elize.

Sensibilidade à dessecação em sementes de jambolão
(*Syzygium cumini*) e canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana*)
/ Rejane Elize Muxfeldt. – Lavras : UFLA, 2008.

46 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras,
2008.

Orientador: José Márcio Rocha Faria.

Bibliografia.

1. *Syzygium cumini*. 2. Tratamento osmótico.
3. Armazenamento. 4. Polietileno glicol. 5. Ácido abscísico. 6.
Dessecação. 7. Sementes recalcitrantes. 8. *Cryptocarya
aschersoniana*. 9. Raios-X. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 634.9562

REJANE ELIZE MUXFELDT

**SENSIBILIDADE À DESSECAÇÃO EM
SEMENTES DE JAMBOLÃO (*Syzygium
cumini*) E CANELA-BATALHA
(*Cryptocarya aschersoniana*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 28 de março de 2008

Prof. Dr. Antonio Claudio Davide UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães UFLA

Prof. Ph.D. José Márcio Rocha Faria

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

À Amazônia,

“Ecossistema exuberante, onde a vida se mostra com toda sua força e plenitude. Porém, frágil, desprotegido e em risco de extinção. Que nossas pesquisas colaborem com a sua sobrevivência”.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Tecnologia do Acre, por ter permitido que eu realizasse os estudos fora do estado.

Ao professor José Márcio Rocha Faria, pela orientação, paciência e disposição infinita em ajudar, e também pelo bom humor contagiante.

Aos professores Antônio Cláudio Davide e Edvaldo A. Amaral da Silva, pelo incentivo, apoio e amizade.

Ao professor Renato Mendes Guimarães, pelos ensinamentos, apoio e carinho.

Em especial a Olívia, pela orientação, amizade e ajuda inestimável em todos os passos dos experimentos.

À Tatiana, pela amizade, companheirismo e disposição em ajudar.

Especialmente a Keila que, além do auxílio inestimável durante a realização deste trabalho, tornou-se uma grande amiga.

Ao Zé Carlos, pela ajuda na colheita e no beneficiamento das sementes.

Às minhas amigas da Funtac, Lucimar e Maria Ida, que, durante minha ausência, assumiram os trabalhos com as sementes.

À minha mãe e irmãos que, mesmo distantes me deram muito carinho e apoio.

Ao meu filho, que esteve sempre presente em meu coração, mesmo estando longe em alguns momentos.

Especialmente á Deus por ter me dado força em todos os momentos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
ARTIGO I.....	1
INTRODUÇÃO.....	2
MATERIAL E MÉTODOS.....	5
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
CONCLUSÕES.....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	17
ARTIGO II.....	22
RESUMO.....	23
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
CONCLUSÕES.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

RESUMO

MUXFELDT, Rejane Elize. Secagem e armazenamento de sementes de Jambolão – *Syzygium cumini* [L.] Skeels (MYRTACEAE). In: _____. **Sensibilidade à dessecação em sementes de jambolão (*Syzygium cumini*) e canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana*)**. 2008. 46p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Sementes de *Syzygium cumini* são recalcitrantes, não tolerando, portanto, a secagem e o armazenamento. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar o efeito do tratamento osmótico (polietileno glicol - PEG) e ácido abscísico (ABA) na redução da sensibilidade à dessecação e no aumento da longevidade dessas sementes no armazenamento. Para caracterizar a sensibilidade à dessecação, sementes recém-colhidas (49% de umidade; 100% de germinação) foram dessecadas até atingirem graus de umidade pré-estabelecidos (40%, 35%, 30%, 25% e 15%) e postas a germinar em seguida. A redução do grau de umidade foi acompanhada por queda na germinação e, com 25% de umidade, a germinação ficou em torno de 40% e com 15%, foi nula. Como tentativa de redução da sensibilidade à dessecação, uma amostra das sementes foi incubada, por 15 dias, a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, em solução de PEG (-1,88 MPa) e PEG (-1,88 MPa) + ABA (10^{-4} M), sendo, em seguida, dessecadas até atingirem os mesmos graus de umidade pré-estabelecidos para as sementes não incubadas e postas a germinar. Sementes submetidas ao tratamento osmótico, com ou sem ABA, antes da secagem, apresentaram pior desempenho, tendo reduzido seu percentual de germinação a 10% ao atingirem 25% de umidade. No armazenamento das sementes, foram testadas cinco condições: saco plástico em câmara fria (8°C - 10°C ; 45%UR); saco plástico em sala climatizada ($20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ / 60%U); saco de papel à temperatura ambiente; solução de PEG a -1,88 MPa a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ em solução de PEG a -1,88 MPa + ABA 10^{-4} M a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. A viabilidade das sementes foi avaliada por testes de germinação após 15, 30 e 90 dias de armazenamento. Os percentuais de germinação obtidos para as sementes armazenadas em sacos plásticos a $20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ / 60%U por 90 dias (44,6 U) não demonstraram queda significativa em relação aos valores iniciais de germinação, verificados logo após o beneficiamento (100% G; 49,0%U). Já os obtidos para as sementes armazenadas em PEG ou em PEG + ABA foram muito baixos ou nulos nesse mesmo período. Nas condições testadas, o tratamento osmótico com ou sem ABA não reduziu a sensibilidade à dessecação e não prolongou a longevidade das sementes.

Termos para indexação: tratamento osmótico, armazenamento, *Syzygium cumini*, polietileno glicol, ácido abscísico, dessecação.

*Orientador: Prof. Ph.D. José Márcio Rocha Faria – UFLA

ABSTRACT

MUXFELDT, Rejane Elize. Drying and storage of seeds of Jambolão -*Syzygium cumini* [L.] Skeels (MYRTACEAE). In: _____. **Desiccation sensitivity in seeds of jambolão (*Syzygium cumini*) and canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana*)**. 2008. 46p. Dissertation (Master Degree in Forest Engineering) - Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil.*

Seeds of *Syzygium cumini* are recalcitrant, which means that they do not tolerate drying and storage. This study aimed to evaluate the effect of the osmotic treatment (polyethylene glycol - PEG) and abscisic acid (ABA) on the reduction of desiccation sensitivity and on the increase of the longevity of these seeds in storage. To characterize desiccation sensitivity, fresh seeds (49% moisture content - MC; 100% germination) were desiccated until reaching pre-defined moisture contents (40, 35, 30, 25 and 15%) and set to germinate. The reduction of the MC was followed by a decrease in the germination. With 25% MC, the germination dropped to around 40% and with 15% MC, germination was null. As an attempt of reduction of desiccation sensitivity, a sample of the seeds was incubated for 15 days, at $20 \pm 2^\circ\text{C}$, in solution of PEG (-1.88 MPa) and PEG (-1.88 MPa) + ABA (10^{-4} M), desiccated until reaching the same pre-defined MCs for the not incubated seeds, and put to germinate. Seeds submitted to the osmotic treatment, with or without ABA, before the drying, performed worst, reducing its germination percentage to 10% when MC reached 25%. In the experiment of seeds storage, five conditions were tested: plastic bag in cold chamber ($8-10^\circ\text{C}$; 45% RH); plastic bag in climatized room (20°C ; 60%RH); paper bag at room temperature; PEG solution (-1.88 MPa) at $20 \pm 2^\circ\text{C}$; and PEG solution (-1,88 MPa) + ABA (10^{-4} M) at $20 \pm 2^\circ\text{C}$. The viability of the seeds was evaluated by germination tests after 15, 30 and 90 days of storage. Seeds stored in plastic bags at 20°C for 90 days (44.6 MC) did not present decrease in the initial values of germination (100% G; 49.0%MC). While seeds stored in PEG or in PEG + ABA presented very low or null germination in the same period. Under the tested conditions, the osmotic treatment with or without ABA did not reduce desiccation sensitivity, neither increase the longevity of the seeds.

Key-words: osmotic treatment, storage, *Syzygium cumini*, polyethylene glycol, abscisic acid, desiccation.

*Adviser: Prof. Ph.D. José Márcio Rocha Faria - UFLA

ARTIGO I

**SECAGEM E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE JAMBOLÃO -
SYZYGIUM CUMINI [L.] SKEELS (MYRTACEAE)**

(Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Sementes)

INTRODUÇÃO

O gênero *Syzygium* tem cerca de 500 espécies arbóreas e arbustivas, de ocorrência na faixa tropical da Ásia. A espécie estudada neste trabalho, *Syzygium cumini* (L.) Skeels (sinonímia: *Syzygium jambolanum* [Lam.] DC.), conhecida popularmente como jambolão ou jamelão, é uma árvore frondosa da família Myrtaceae, originária da Índia, podendo atingir 15 m de altura. Produz, anualmente, grandes quantidades de frutos ovóides, carnosos, negro-arroxeados, de 2 a 3 cm de comprimento (Figura 1-C), com uma única semente poliembriônica (Figura 2-A) e de comportamento recalcitrante (Morton, 1987). De amplo uso medicinal, a casca é empregada contra disenteria e hemorragias. O pó das sementes é empregado no tratamento da diabetes, com as mesmas propriedades da insulina. É muito cultivada como árvore ornamental, além de seus frutos serem comestíveis (Loguercio *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de sementes ortodoxas pode ser dividido em três fases: histodiferenciação, maturação e secagem (Kermode, 1990). Durante a fase de maturação, essas sementes adquirem a capacidade de tolerar a dessecação, sendo assim dispersas, podendo ser armazenadas, em geral, por longos períodos (Hong & Ellis 1992, Bewley & Black, 1994). Sementes recalcitrantes, por sua vez, não passam pela fase de secagem durante o desenvolvimento, permanecendo metabolicamente ativas e sendo dispersas com alto grau de umidade. Elas são sensíveis à dessecação e apresentam curta longevidade no armazenamento, variando de poucos dias a alguns meses. Além disso, sementes recalcitrantes de muitas espécies, particularmente as de origem tropical, são sensíveis também a temperaturas abaixo de 15°C (Berjak *et al.*, 1989; Pammenter & Berjak, 1999). Está claro, portanto, que, enquanto é relativamente fácil armazenar sementes ortodoxas, o armazenamento de sementes recalcitrantes ainda representa um desafio (Faria, 2006).

Por serem sensíveis à dessecação, sementes recalcitrantes devem ser armazenadas úmidas (Greggains *et al.*, 2000). Entretanto, mesmo sob condições úmidas, sua longevidade é curta, variando de poucas semanas a alguns meses, dependendo da espécie (Roberts & King, 1980). Uma das possíveis causas da perda da viabilidade de sementes recalcitrantes armazenadas é o fato de elas permanecerem metabolicamente ativas durante o armazenamento, requerendo, assim, umidade adicional, que não é, obviamente, fornecida, resultando em um estresse de água crescente (Pammenter *et al.*, 1994). Portanto, a redução das taxas metabólicas pode prolongar a longevidade dessas sementes no armazenamento (Berjak & Pammenter, 2003), o que pode ser feito por meio do seu armazenamento em um meio osmótico, com ou sem a adição de inibidores de germinação, como o ácido abscísico (ABA) (Tompsett, 1985). Um dos produtos mais comumente utilizados em tratamentos osmóticos é o polietileno glicol (PEG), um soluto quimicamente inerte e atóxico, que não é absorvido pelas sementes devido ao grande tamanho de suas moléculas (Villela *et al.*, 1991).

Além de reduzir o metabolismo, o tratamento osmótico e o ABA, quando aplicados isoladamente, conjuntamente, ou combinados com outros agentes de estresse, como secagem e choque térmico, foram capazes de induzir ou aumentar a tolerância à dessecação, não apenas em sementes recalcitrantes (Goldbach, 1979; Beardmore & Whittle, 2005; Andreo *et al.*, 2006; Faria 2006), como também em sementes ortodoxas germinadas (Bruggink & Toorn, 1995; LePrince *et al.*, 2000; Buitink *et al.*, 2003; Faria *et al.*, 2005), embriões somáticos de *Medicago sativa* (Senaratna *et al.*, 1989; Anandarajah & McKersie, 1990), sementes mutantes (sensíveis a dessecação) de *Arabidopsis thaliana* (*aba* e *abi3*) (Ooms *et al.*, 1994) e sementes ortodoxas em desenvolvimento (Kermode & Finch-Savage, 2002).

Até o momento, poucos estudos moleculares com sementes recalcitrantes foram desenvolvidos. Portanto, não pode ser descartada a possibilidade de que genes relacionados à dessecação estejam presentes no genoma de espécies que produzem sementes recalcitrantes, mas não são expressos porque a planta não recebe os sinais ambientais necessários à expressão desses genes (Faria, 2006). Essa possibilidade é reforçada pelo fato de alguns genes relacionados à tolerância a dessecação já terem sido encontrados em espécies que produzem sementes recalcitrantes, como *Quercus robur*, *Castanea sativa*, *Aesculus hippocastanum*, *Acer pseudoplatanus*, *Acer saccharinum* (Finch-Savage *et al.*, 1994) e *Inga vera* (Faria, 2006).

As proteínas LEA e o hormônio ABA também podem ocorrer em sementes recalcitrantes e poderiam contribuir para aumentar a tolerância à desidratação e ao frio (Cardoso, 2004). Sob condições de estresse, geralmente hídrico, a diminuição de água nas células resulta em alterações no metabolismo e alguns processos reguladores da expressão de genes específicos (Stacciarini-Seraphin, 2004). O ABA exerce efeitos na proteção ao estresse hídrico por meio da indução da expressão de genes que codificam a síntese de proteínas, para, assim, evitar as perdas de água e restaurar os danos celulares (Stacciarini-Seraphin, 2004). Entretanto, vários genes induzidos por déficit hídrico são indiferentes ao ABA exógeno. Sabe-se também que é inibidor da germinação, quando aplicado exogenamente (Ferreira & Borghetti, 2004).

A hipótese do presente trabalho foi a de que o tratamento osmótico com PEG, com ou sem ABA, reduz a sensibilidade à dessecação e prolonga a longevidade no armazenamento de sementes de *jambolão*. Os objetivos foram caracterizar o comportamento dessas sementes quanto à dessecação e ao armazenamento sob diversas condições e verificar o efeito do PEG e ABA na sensibilidade à dessecação e na longevidade das sementes.

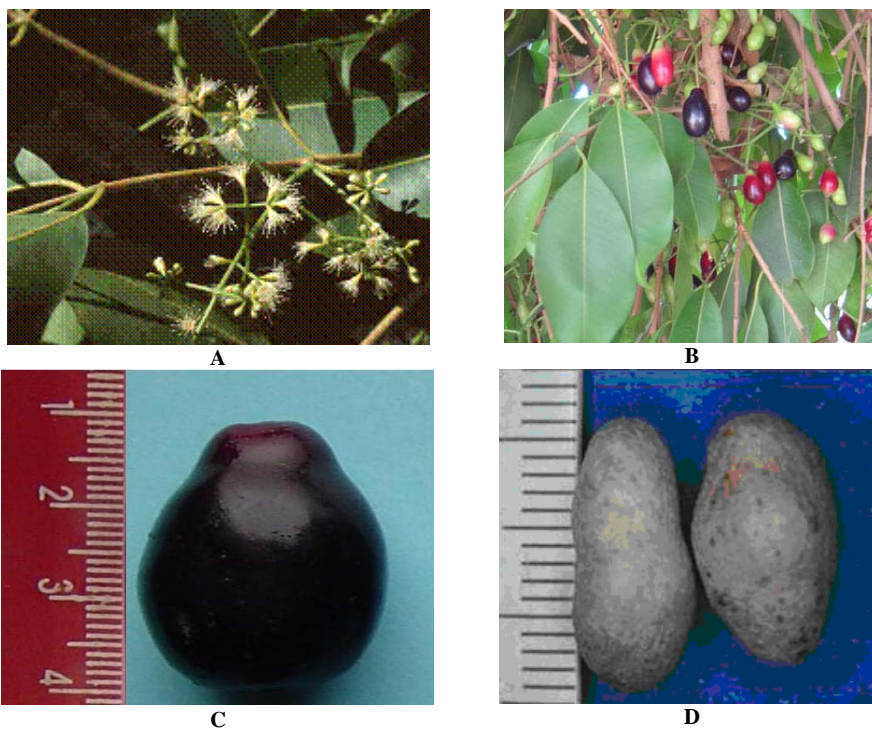


FIGURA 1 . *Syzygium cumini* [L.] Skeels A- floración, B- frutificación, C- fruto maduro, D- sementes beneficiadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e beneficiamento

Frutos maduros de jambolão foram coletados entre a segunda quinzena de janeiro e a primeira quinzena de fevereiro de 2006, de árvores plantadas no pomar da Subestação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais- EPAMIG, no Campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Na colheita foram utilizados um podão e uma lona plástica. Os frutos foram beneficiados por meio de maceração em peneira de malha de aço, sob água corrente até a retirada total da polpa e as sementes foram homogeneizadas

compondo um único lote. Posteriormente, foram colocadas em sala climatizada, a 20°C e 60% UR, até que perdessem a água superficial, sendo utilizadas em seguida para os estudos de germinação, dessecação e armazenamento. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Determinação do grau de umidade

O grau de umidade foi determinado em estufa, a $103\pm 2^\circ\text{C}$, por 17 horas, conforme as Regras de Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foram utilizadas quatro repetições de cinco sementes, fragmentadas. O resultado foi expresso em percentagem, com base no peso úmido das sementes.

Testes de germinação

As sementes recém-colhidas e beneficiadas foram lavadas por dez minutos em solução de hipoclorito de sódio 1%, para desinfecção, sendo, em seguida, enxaguadas em água corrente. Para a determinação da temperatura ótima de germinação, foram realizados testes de germinação em delineamento experimental inteiramente casualizado, nas temperaturas de 20°, 25°, 30° e 35°C, com quatro repetições de 25 sementes. As sementes foram colocadas entre areia (areia média lavada e autoclavada), em bandejas plásticas (36,5 x 26,0 x 6,5cm), sendo o teste conduzido em germinadores tipo BOD com temperatura e luz constantes.

Nos experimentos relativos à sensibilidade à dessecação, os testes de germinação foram conduzidos seguindo o mesmo padrão descrito anteriormente, porém, as bandejas foram colocadas em sala de germinação com temperatura de 25°C e luz branca constantes. A avaliação foi realizada diariamente, sendo o critério de germinação a protrusão da radícula (germinação visível) (Figura 2-B).

Os resultados obtidos foram expressos em percentual de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG), calculado segundo fórmula proposta por Maguire (1962).

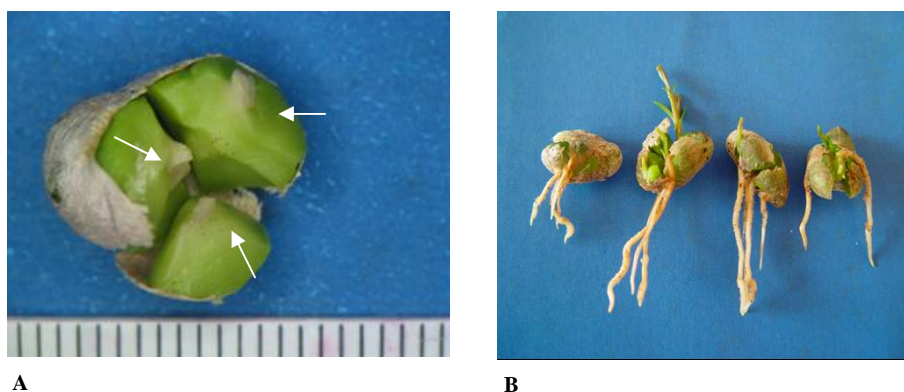


FIGURA 2. *Sysygium cumini* A- visualização da poliembrião ; B- sementes germinadas

Caracterização da sensibilidade à dessecação

Para a caracterização da sensibilidade à dessecação, as sementes foram dessecadas em caixa de secagem fechada, com ventilação interna, conhecida como “higrostat” (Figura 3); contendo solução saturada de hidróxido de sódio (NaOH), em uma bandeja no fundo, o que proporcionou, no interior da caixa, umidade relativa em torno de 18,5%. As sementes foram dispostas em camada única sobre uma tela plástica, 20 cm acima da solução de NaOH. As sementes foram secas até que atingissem ou se aproximassem dos graus de umidade pré-estabelecidos (40%, 35%, 30%, 25% e 15%). Para o acompanhamento da queda no grau de umidade, foram realizadas pesagens periódicas das sementes, sendo o grau de umidade alvo calculado com base na expressão (Sacandé et al., 2004):

$$\text{Peso (g) correspondente à umidade desejada} = \frac{(100 - \text{Umidade inicial}) \times \text{Peso inicial}}{(100 - \text{Umidade desejada})}$$

Quando cada grau de umidade pré-estabelecido era alcançado, amostras das sementes eram retiradas das caixas de secagem, lavadas em solução de hipoclorito de sódio 1%, por dez minutos, para desinfecção, enxaguadas em água corrente e colocadas para germinar. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes, entre areia, em bandejas plásticas (36,5 x 26,0 x 6,5cm). Os testes foram conduzidos em sala climatizada, a 25°C e luz constante. A avaliação foi realizada diariamente, sendo o critério de germinação a protrusão da radícula (germinação visível).

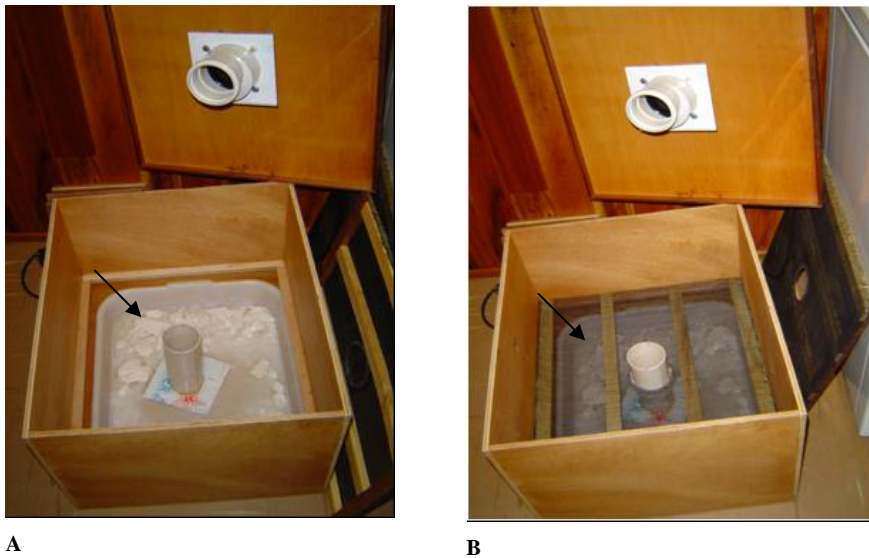


FIGURA 3 – Caixa adaptada para secagem de sementes (“higrostat”): A- bandeja com hidróxido de sódio (NaOH), B- tela suspensa a 20 cm da bandeja e sistema de ventilação.

Para estudar o efeito do PEG e PEG + ABA na sensibilidade à dessecação das sementes, dois tratamentos foram testados: PEG (-1,88 MPa) e PEG (-1,88 MPa) + ABA (10^{-4} M). A solução de PEG foi preparada segundo

Michel & Kaufmann (1973). As sementes foram dispostas em camada única, em bandejas plásticas, sendo levemente cobertas pelas soluções. As bandejas foram cobertas por sacos plásticos para evitar ressecamento das soluções e mantidas a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Como testemunha, uma terceira amostra de sementes foi embalada em saco plástico e mantida à mesma temperatura. Após 15 dias, a incubação em PEG e PEG + ABA foi interrompida, as sementes foram lavadas em água corrente até a total eliminação de resíduos das soluções, secas superficialmente em papel toalha e colocadas para secar em caixas de secagem, conforme descrito anteriormente, sendo dessecadas até atingirem os mesmos graus de umidade alvo considerados anteriormente. Os testes de germinação foram conduzidos como já descrito.

Testes de armazenamento

Para o estudo da longevidade das sementes em armazenamento, cinco condições foram testadas: 1) saco plástico em câmara fria ($8^{\circ}\text{-}10^{\circ}\text{C}$; 45%UR); 2) saco plástico em sala climatizada (20°C ; 60%UR); 3) saco de papel à temperatura ambiente; 4) armazenamento em bandejas contendo solução de PEG (-1,88 MPa), a 20°C ; armazenamento em bandejas contendo solução de PEG (-1,88 MPa) + ABA (10^{-4} M), a 20°C (Figura 4). Foram retiradas amostras aos 15, 30 e 90 dias para testes de umidade e de germinação, como descrito acima. Sementes armazenadas em soluções de PEG e PEG + ABA foram lavadas em água corrente até a total eliminação de resíduos das soluções e secas em papel toalha para a retirada da água superficial, para, em seguida, serem submetidas aos testes de umidade e de germinação.

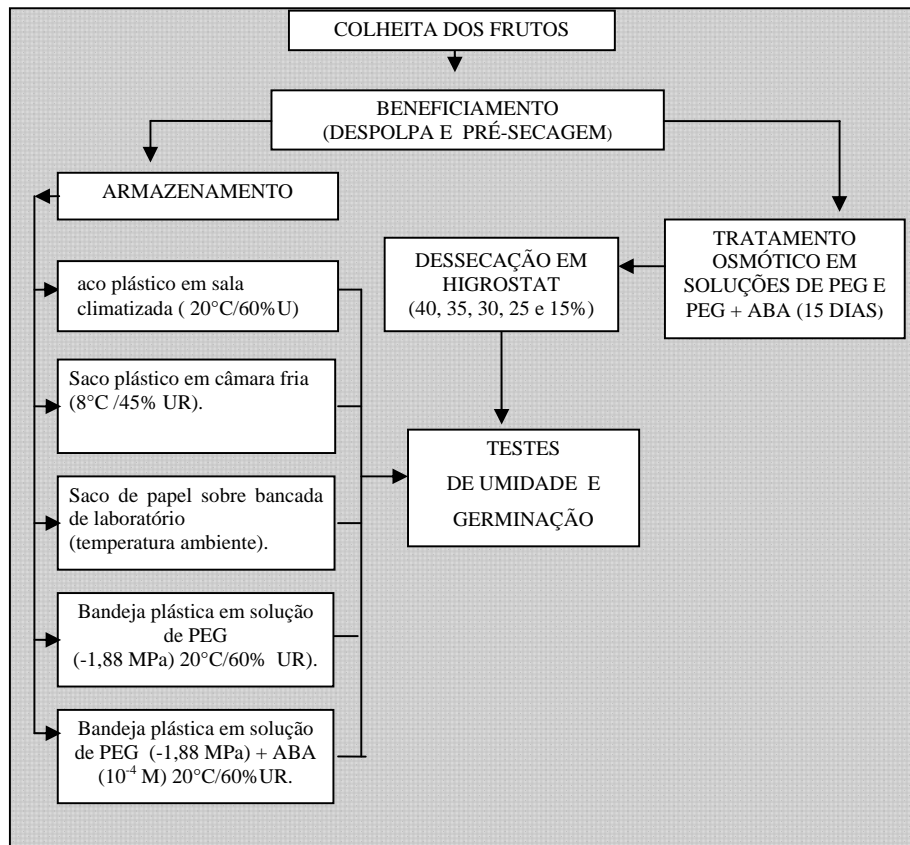


FIGURA 4. Etapas realizadas nos experimentos com sementes de *Szygium cumini*.

Delineamento experimental e análise estatística

Todos os experimentos tiveram delineamento inteiramente casualizado e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, pelo teste F, a 5% de probabilidade com o uso do *software* Statistical Assistance Software - ASSISTAT (Silva & Azevedo, 2006). As médias foram comparadas entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Germinação de sementes recém-beneficiadas

O grau de umidade inicial das sementes, determinado logo após o beneficiamento, foi de 49%. A taxa de germinação foi maior nas temperaturas de 20° a 35°C (93% a 100%) e a 15°C (72%). Com relação ao índice de velocidade de germinação (IVG), os maiores valores foram alcançados pelas sementes que germinaram entre 25° e 35°C (Figura 5).

Nas temperaturas entre 25° e 35°C, a germinação teve início aos quatro dias após a montagem do teste e estendeu-se até 9° e 13° dias, respectivamente. Nas temperaturas mais baixas, iniciou-se no 11º dia, estendendo-se até o 47º dia.

Apesar de não ter sido observada diferença estatística nos percentuais de germinação e IVG entre as temperaturas de 25° a 35°C, para os demais testes de germinação deste trabalho foi adotada a temperatura de 25°C±2°C.

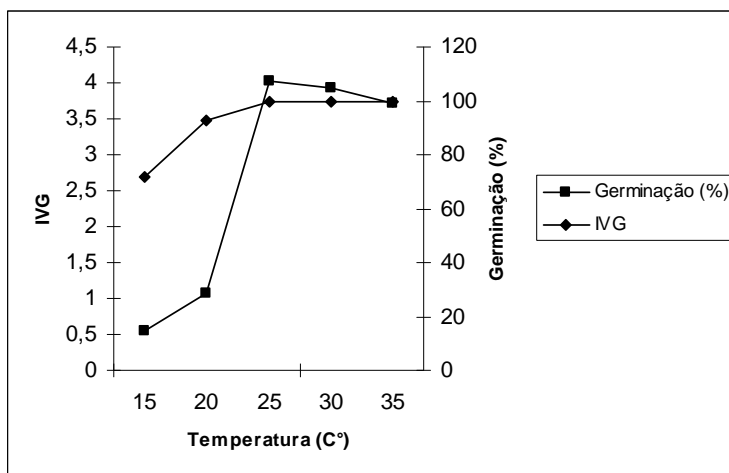


FIGURA 5 Percentual final de germinação e índice de velocidade de germinação em diferentes temperaturas testadas com sementes recém-colhidas (49% umidade) de *Syzygium cumini*.

Sensibilidade à dessecação

Sementes incubadas em PEG e PEG+ABA por 15 dias e dessecadas até 35% de umidade não apresentaram diferença significativa nas taxas de germinação. Porém, foi observado um decréscimo no índice de velocidade de germinação em relação à testemunha armazenada em saco plástico na sala climatizada ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$ / 60%UR) (Figura 6). A partir de 31% de umidade ocorreu redução na porcentagem de germinação para as sementes armazenadas em PEG+ABA. Com 25% de umidade, os índices de avaliação para as sementes incubadas em PEG e PEG + ABA mostraram-se inferiores aos da testemunha e, com 15% de umidade, a germinação foi nula (Figura 6). A mesma tendência foi observada nos resultados dos índices de velocidade de germinação (IVG), nos quais a testemunha com até 25% de umidade apresentou resultados superiores aos tratamentos testados (Figura 7).

Com os tratamentos utilizados no intuito de reduzir a sensibilidade à dessecação das sementes de *jambolão*, nas condições testadas, não se obtiveram resultados positivos.

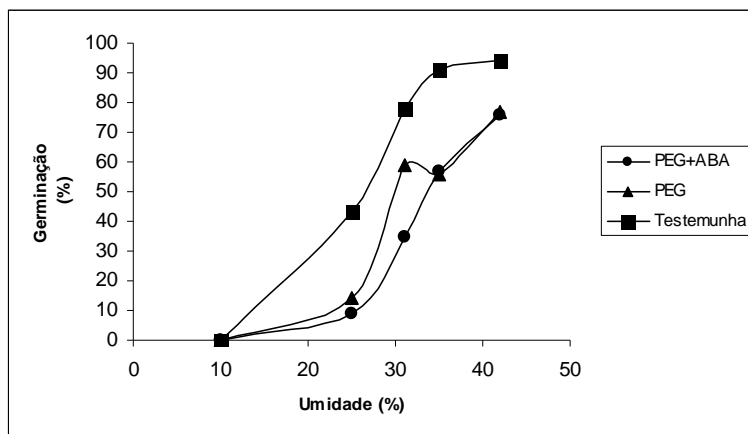


FIGURA 6 Porcentagem de germinação em sementes de *Syzygium cumini* após 15 dias de tratamento osmótico (PEG) com ou sem ABA, seguido de secagem em diferentes graus de umidade. O tratamento testemunha equivale às sementes armazenadas por 15 dias em saco plástico a 20°C. Regressões (Testemunha $y = 3,203x - 30,406$ $R^2 = 0,9495$; PEG $y = 2,5314x - 31,199$ $R^2 = 0,8814$; PEG + ABA $y = 2,4518x - 34,722$ $R^2 = 0,8654$)

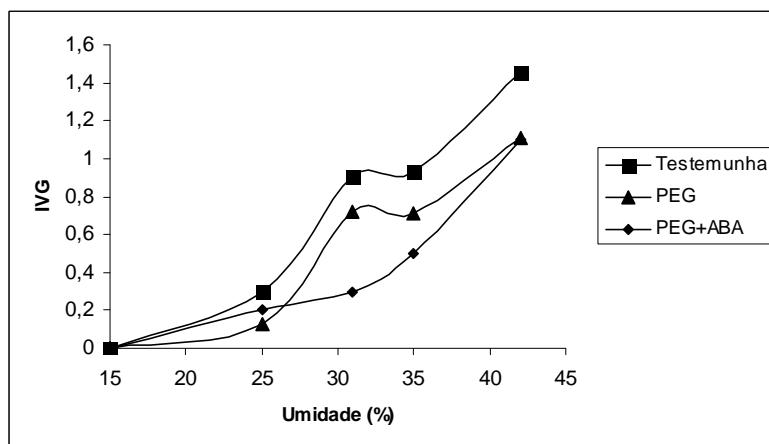


FIGURA 7. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Syzygium cumini* após 15 dias de tratamento osmótico (PEG) com ou sem ABA, seguido de secagem em diferentes graus de umidade. O tratamento testemunha equivale às sementes armazenadas por 15 dias em saco plástico a 20°C. Regressões (Testemunha $y = 0,0551x - 0,9197$ $R^2 = 0,9465$; PEG $y = 0,0429x - 0,7386$ $R^2 = 0,9172$; PEG+ABA $y = 0,0398x - 0,7495$ $R^2 = 0,8416$).

Armazenamento

Sementes de jambolão armazenadas em sacos de papel à temperatura ambiente apresentaram declínio significativo no percentual de germinação já aos 15 dias, reduzindo de 100% para 17,5%. Sementes armazenadas nas demais condições mantiveram médias de germinação acima de 89%, até os 30 dias. Após 90 dias, sementes armazenadas em sacos plásticos a 20°C mantiveram a germinação inalterada, enquanto aquelas armazenadas a 8°C apresentaram queda significativa da germinação (Figura 8). Esta redução pode ter ocorrido devido a uma sensibilidade das sementes a baixas temperaturas, já que se sabe que sementes recalcitrantes, principalmente as de espécies de origem tropical, podem ser sensíveis a temperaturas abaixo de 15°C (Berjak *et al.*, 1989).

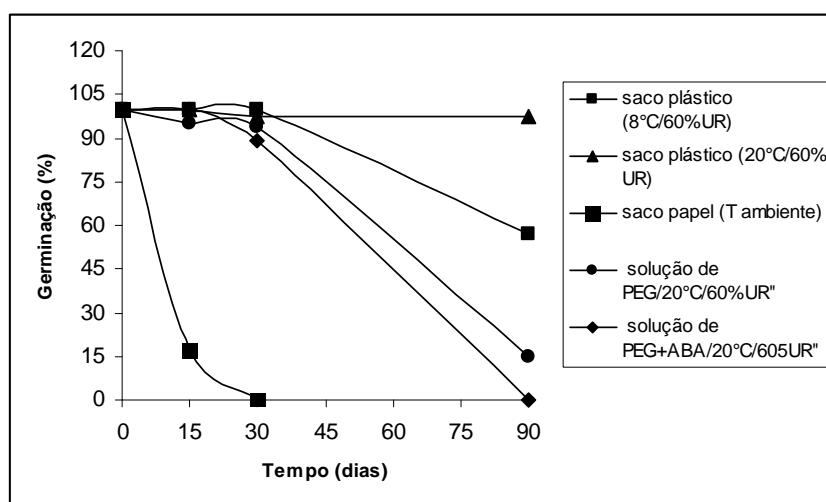


FIGURA 8. Porcentagem média de germinação (G%) de sementes de *Syzygium cumini* após 15, 30 e 90 dias em diferentes condições. Regressões (saco plástico 8°C $y = -0,5181x + 106,73$ $R^2 = 0,9036$; saco plástico 20°C $y = 0,0007x^2 - 0,099x + 100,39$ $R^2 = 0,7827$; saco papel temperatura ambiente $y = 0,1444x^2 - 7,6667x + 100$ $R^2 = 1$; solução de PEG $y = -0,0118x^2 + 0,1326x + 98,725$ $R^2 = 0,9971$; PEG+ABA $y = -0,0128x^2 + 0,028x + 100,72$ $R^2 = 0,9993$).

Após 90 dias, sementes armazenadas em PEG apresentaram baixa germinação (15%) e aquelas armazenadas em PEG+ABA não germinaram. A falta de oxigenação das sementes nessas condições de armazenamento (em soluções) pode ter contribuído para a forte queda da viabilidade. No caso das sementes armazenadas em PEG+ABA, outro fator que pode ter contribuído para a ausência total de germinação é o ABA, devido ao seu efeito inibidor. Não foi observada germinação espontânea em nenhuma das condições testadas, durante o período de armazenamento.

O armazenamento de embriões de *Inga vera* em PEG a 5° ou 20°C triplicou a longevidade, quando comparado ao armazenamento em sacos plásticos (Faria, 2006). Resultados ainda melhores, foram relatados por Andréo et.al. (2006), em estudos com embriões de *Inga vera* mantidos em solução de PEG a -2,0 MPa. Nesse caso, os embriões mantiveram germinação superior a 80%, após 90 dias de armazenamento.

Brocklehurst & Dermam (1984), Smith & Cobb (1991), Copeland & McDonald (1995) e Guimarães (2000) ressaltam que em trabalhos de condicionamento osmótico, além dos solutos, outros fatores, como potencial hídrico, disponibilidade de oxigênio, temperatura, presença de microrganismos e da duração do tratamento, afetam eficiência do método. Portanto, no presente trabalho, o fato de o tratamento osmótico utilizado (com ou sem ABA) não ter reduzido a sensibilidade à dessecação e a longevidade das sementes pode ser atribuído aos seguintes fatores: as condições (temperatura, potencial hídrico, concentração de ABA, etc.) não foram ideais, houve falta de oxigenação nas soluções ou a espécie estudada não tem os genes relacionados à tolerância à dessecação.

CONCLUSÕES

- Nas condições e períodos de armazenamento testados, a embalagem de saco plástico manteve melhor a viabilidade das sementes de *Syzygium cumini* a 20°C e 60% UR, até os 90 dias.
- O tratamento osmótico das sementes com as soluções de PEG e PEG + ABA, nas concentrações, temperatura e tempo considerados, não reduziu a sensibilidade à dessecação e não prolongou a longevidade das sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANDARAJAH, K.; MCKERSIE, B.D. Manipulating the desiccation tolerance and vigor of dry somatic embryos of medicago sativa L. with sucrose, heat shock and abscisic acid. **Plant Cell Reports**, New York, v.9, n.8, p.451-455, 1990.

ANDRÉO, Y.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, C.J. Mobilização de água e conservação da viabilidade de embriões de sementes recalcitrantes de ingá (*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T. D. Pennington 1. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, n.2, p.309-318, abr./jun. 2006.

BEARDMORE, T.; WHITTLE, C.A. Induction of tolerance to desiccation and cryopreservation in silver maple (*acer saccharinum*) embryonic axes. **The Physiology**, Victoria, v.25, n.8, p.965-972, Aug. 2005.

BERJAK, P.; FARRANT, J.M.E.; PAMMENTER, N.W. The basis of recalcitrant seed behaviour. Cell biology of the homoiohydrous seed condition. In: TAYLORSON, R.B. **Recent advances in the development and germination of seeds**. New York: Plenum Press, 1989. p.89-108.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N.W. Understanding and handling desiccation-sensitive seeds. In: SMITH, J.B.; DICKIE, R.D.; LININGTON, S.H.; PRITCHARD, H.W.; PROBERT, R.J. **Seed conservation: turning science into practice**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2003. p.417-430.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BROCKLEHUST, P.A.; DEARMAN, J.A. Comparison of different chemicals for osmotic treatment of vegetable seed. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.105, n.1, p.391-398, June 1984.

BRUGGINK G.T.; TOORN, P. van der. Induction of desiccation tolerance in germinated seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v.5, n.1, p.1-4, Mar. 1995.

BUITINK, J.; VU, B.L.; SATOUR, P.; LEPRINCE, O. The re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Medicago truncatula* Gaertn seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v.13, n.4, p.273-286, Dec. 2003.

CARDOSO, V.J.M. Germinação. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p.386-408.

COPELAND L.O.; Mc.DONALD JR., M.B. **Seed science and technology**. 3.ed. New York: Chapman & Hall, 1995. 409p.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour. I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, London, v.41, n.230, p.1167-1174, Sept. 1990.

FARIA, J.M.R. **Desiccation tolerance and sensitivity in *Medicago truncatula* and *Inga vera* seeds**. 2006. 145p. Thesis (PhD) - Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.

FARIA, J.M.R.; BUITINK, J.; LAMMEREN, A.A.M. van ; HILHORST, H.W.M. Changes in DNA and microtubules during loss and re-establishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. **Journal of Experimental Botany**, London, v.56, n.418, p.2119-2130, Aug. 2005.

FERREIRA, AG.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FINCH-SAVAGE, W.E.; PRAMANIK, S.K.; BEWLEY, J.D. The expression of dehydrin proteins in desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of temperate trees. **Planta**, Berlin, v.193, n.4, p.478-485, May. 1994.

GOLDBACH, H. Imbibed storage of *Melicoccus bijugatus* and *Eugenia brasiliensis* using abscisic acid as a germination inhibitor. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.7, p.403-406, 1979.

GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W.E.; QUICK, W.P.; ATHERTON, N.M. Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. **New Phytologist**, New York, v.148, n.2, p.267-276, Nov. 2000.

GUIMARÃES, R.M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica*, L.)**. 2000. 180f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. The survival of germinating orthodox seeds after desiccation and hermetic storage. **Journal of Experimental Botany**, London, v.43, n.247, p.239-247, Feb.1992.

SACANDÉ, M.; JOKER, D.; DULLOO, M.; THOMSEN, K.A. (Ed.) **Comparative storage biology of tropical tree seeds**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. 363p.

KERMODE, A.R. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.9, n.2, p.155-195, 1990.

KERMODE, A.R.; FINCH-SAVAGE, B.E. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant, seeds in relation to development. In: BLACK M.; PRICHARD, H.W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford: Cabi Publishing, 2002. p.49-184.

LEPRINCE, O.; HARREN, F.J.M.; BUITINK, J.; ALBERDA, M.; HOEKSTRA, F.A. Metabolic dysfunction and unabated respiration precede the loss of membrane integrity during dehydration of germinating radicles. **Plant Physiology**, Rockville, v.122, n.2, p.597-608, Feb. 2000.

MAGUIRRE, J.D. Speed of germination-aid seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, Mar./Apr.1962.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Rockville, v.72, n.5, p.914-916, May 1973.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, p.371-376, Mar./Abr. 2005.

MORTON, J.F. Jambolan. In: **Fruits of warm climates**. Miami, 1987.
Disponível em:< http://www.hort.purdue.edu/newcrop/Indices/index_ab.html>.
Acesso em: 20 mar. 2008.

OOMS, J.J.J.; VEEN, R.van der; KARSSSEN, C.M. Abscisic acid and osmotic stress or slow drying independently induce desiccation tolerance in mutant seeds of *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.92, n.3, p.506-510, Nov. 1994.

PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v.9, n.1, p.13-37, Mar.1999.

PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P.; FARRANT, J.M.; SMITH, M.T.; ROSS, G. Why do stored hydrated recalcitrant seeds die? **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, n.2, p.187-191, June 1994.

ROBERTS, E.H.; KING, M.W. The characteristics of recalcitrant seeds. In: CHIN, H.F.; ROBERTS, E.H. (Ed.). **Recalcitrant crop seeds**. Kuala Lumpur: Tropical Press, 1980. p.1-5.

SACANDÉ, M.; JOKER, D.; DULLOO, M.; THOMSEN, K.A. (Ed.). **Comparative storage biology of tropical tree seeds**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. 363p.

SANTANA, D.G. de; RANAL, M.A. Análise estatística. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.197-208.

SENARATNA, T.; MCKERSIE B.D.; BOWLEY, S.R. Desiccation tolerance of alfalfa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos. Influence of abscisic acid, stress pretreatments and drying rates. **Plant Science**, Clare, v.65, n.2, p.253-259, 1989.

SILVA, F. de A.S. e; AZEVEDO, C.A.V. de. A new version of ASSISTAT – Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., Orlando, 2005. **Proceedings...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

SILVA, F. de A.S. e; AZEVEDO, C.A.V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p.71-78, Jan./Jun. 2002.

SMITH,P.T.;COBB,B.G. Accelerated germination of peppers seed by priming wit salt solutions and water. **HortScience**, Alexadria, v.26, n.4, p.417-419, Apr.1991.

STACCIARINI-SERAPHIN, E. Ácido abscísico. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p.293-307.

TOMPSETT, P.B. The influence of moisture content and storage temperature on the viability of *Shorea almon*, *Shorea robusta*, and *Shorea roxburghii* seed. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.15, n.6, p.1074-1079, Dec.1985.

VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SERQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.11/12, p.1957-1968, dez. 1991.

ARTIGO II

UTILIZAÇÃO DO TESTE DE RAIOS X NA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA DESSECAÇÃO EM DIÁSPOROS DE CANELA- BATALHA -*Cryptocarya aschersoniana* MEZ (LAURACEAE)

(Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Sementes)

RESUMO

MUXFELDT, Rejane Elize. Utilização do teste de raios-X na avaliação dos Efeitos da dessecação em diásporos de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* Mez-Lauraceae.). In: _____. **Sensibilidade à dessecação em sementes de jambolão (*Syzygium cumini*) e canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana*)**. 2008. 46p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

No presente trabalho teve-se como objetivo avaliar os efeitos da dessecação, bem como o nível de infestação ocasionada por insetos em diásporos de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* Mez.) utilizando-se testes de raios-X. Os danos provocados pela dessecação foram dimensionados nas imagens, e associados à formação de plântulas. Diásporos recém-beneficiados (45% de umidade e 37% de germinação) foram colocados para secar em sala climatizada (20°C e 60% UR), dentro de bandejas plásticas em camada única. Posteriormente, com o intuito de acelerar o processo de secagem, foram colocados em caixas de secagem com solução saturada de hidróxido de sódio (28% UR) e amostrados com 45, 37, 35, 31 e 26% de umidade. Para as radiografias, utilizou-se uma intensidade de radiação de 40 KVp no tempo de exposição de 1,5 minutos. Posteriormente as radiografias foram fotografadas e as imagens analisadas em computador, sendo medido o afastamento entre o endocarpo e a semente. As sementes foram classificadas em sementes intactas, sementes com afastamento parcial, sementes com afastamento total e sementes predadas. Os testes de germinação foram realizados sobre areia, em germinadores tipo Mangelsdorf a 25°C e luz branca constante. Pelos resultados observa-se que a germinação é afetada quando a umidade das sementes fica abaixo de 26%. Nesse ponto, o afastamento entre o endocarpo e a semente é de 0,65mm. Houve uma correlação positiva entre a viabilidade das sementes, avaliada pelo teste de germinação e o afastamento entre o endocarpo e a semente, observado nas radiografias.

Termos para indexação: raios-X, *Cryptocarya aschersoniana*, dessecação, sementes recalcitrantes, espécie florestal.

*Orientador: Prof. Ph.D. José Márcio Rocha Faria - UFLA

ABSTRACT

MUXFELDT, Rejane Elize. Use of X-ray analysis in studies of the effects of desiccation on diaspores of canela-batalha (*Cryptocarya Aschersoniana Mez-Lauraceae.*). In: _____. **Desiccation sensitivity in seeds of jambolão (*Syzygium cumini*) and canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana*)**. 2008. 46 p. Dissertation (Master Degree in Forest Engineering) - Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil.*

The present study aimed to evaluate the effect of desiccation on seeds of “canela-batalha” (*Cryptocarya aschersoniana* Mez.) through X-rays. The damages caused by desiccation were measured in the images, as well as the level of infestation by insect larvae and related to the formation of seedlings. Right after fruit depulping, the diaspores (endocarp plus seed) (45% moisture content – MC and 37% germination) were dried in climatized room (20°C and 60% RH), inside of plastic trays in a single layer. Later, in order to speed up the drying process, they were placed in drying boxes with saturated solution of sodium hydroxide (28% RH) and sampled with 45, 37, 35, 31 and 26% MC. For the X-rays, an intensity of radiation of 40 KVp was used and the time of exposition of 1.5 min. The radiographies were then photographed and the images analyzed in computer, being measured the separation between endocarp and the seed. The diaspores were classified as intact; with partial separation; with total separation and predated. The germination tests were carried out on sand, in incubators Mangelsdorf at 25°C and constant white light. The results showed that the germination is affected when the diaspore MC reaches values below 26%. In this point, the separation between endocarp and the seed is 0.65mm. There was a positive correlation between the viability of the seeds, evaluated through germination tests and the separation between endocarp and the seed, observed through X-rays.

Key-words: X-rays, *Cryptocarya aschersoniana*, desiccation, recalcitrant seeds, forest species.

*Adviser: Prof. Ph.D. José Márcio Rocha Faria - UFLA

INTRODUÇÃO

Obter e manter elevada qualidade fisiológica de um lote de sementes é uma etapa crítica para assegurar e melhorar a produção de mudas. Sementes de espécies da família Lauraceae, em geral, não suportam longos períodos de armazenamento (Carvalho, 2000). Sementes de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* Mez.) são recalcitrantes (Davide et al., 2003), ou seja, não suportam a perda de umidade e armazenamento em temperaturas muito baixas, perdendo a viabilidade em curto espaço de tempo (Roberts, 1973). Ao contrário de sementes classificadas como ortodoxas, o grau de crítico de umidade para as sementes recalcitrantes é alto, em torno de 20% (Davide et al., 1999). Sementes recalcitrantes não passam pela secagem ao final da maturação e são dispersas com umidade elevada, mantendo o metabolismo ativo após a dispersão (Pammenter & Berjak, 1999).

Cryptocarya aschersoniana Mez. pertence à família Lauraceae, sendo conhecida como canela-batalha, canela-fogo, canela-pimenta e canela-pururuca. Atinge entre 15-25 m de altura. Sua ocorrência abrange os estados de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul, na Floresta Ombrófila Densa da Floresta Atlântica aos sub-bosques de pinhais (Lorenzi, 1998).

O gênero *Cryptocarya* é pantropical, com aproximadamente 350 espécies, sendo cerca de 10 delas na América do Sul. *Cryptocarya* significa fruto escondido (do grego, *kryptos* - escondido e *káryon* - fruto), devido ao completo envolvimento do fruto pelo eixo floral, principal caráter que distingue este gênero dos demais dentro da família (Moraes & Alves, 2002). A espécie pertence ao grupo das climax tolerantes à sombra (Davide et al. 1995), seus frutos amadurecem nos meses de fevereiro a março, sendo consumidos por várias espécies de animais (Lorenzi, 1998).

Os frutos têm tamanho máximo de 3 cm de comprimento por 2 cm de diâmetro (Moraes & Alves, 2002) e possuem sementes recalcitrantes (Carvalho, 2000), atingindo 540 unidades por quilo. Apresentam baixa germinação, podendo chegar a até sessenta dias para o início da emergência de plântulas (Lorenzi, 1998). As sementes podem ser armazenadas por 180 dias, em sacos plásticos, em câmara fria (5°C/70%UR), após leve secagem (35%U) (Tonetti, 2000).

Além da característica recalcitrante, em alguns estudos relacionados à canela-batalha, foi observada a possibilidade de dormência embrionária, com aumentos significativos no percentual de germinação após armazenamento em curto prazo e secagem parcial (Davide et al., 1999; Carvalho, 2000). Como é comum em espécies da família Lauraceae, as sementes de canela-batalha são bastante atacadas por insetos, não sendo esses danos facilmente visualizados pela simples observação externa (Carvalho, 2000).

A análise de sementes utilizando-se o teste de raios X é uma técnica recomendada pela ISTA (International Rules For Seed Testing). Os raios X são ondas eletromagnéticas que trafegam à velocidade da luz, mas com variáveis comprimentos de onda (1/10.000 a 1/100.000 daquele da luz visível). Eles podem ser detectados em filmes fotosensíveis, formando a imagem do contraste das diferenças de densidade do objeto radiografado. As partes escuras da radiografia correspondem àquelas em que os raios X penetram mais facilmente, enquanto áreas mais claras representam partes mais densas da semente. Os raios X de baixa energia (grande comprimento) são apropriados para objetos pequenos, como sementes. A técnica baseia-se na absorção da radiação em diferentes quantidades pelos diferentes tecidos das sementes, o que depende da espessura, da densidade e da composição desses tecidos, além do comprimento de onda da radiação (Simak, 1991; Bino et al., 1993; ISTA, 1999, 2004).

A utilização da radiografia para determinar a qualidade das sementes tem como principais vantagens sobre os demais métodos a rapidez e a conservação da viabilidade das sementes testadas. Assim, é possível submetê-las a outros testes fisiológicos. Entre as espécies florestais, a técnica já foi utilizada em embriões de *Lithraea molleoides* (Machado & Cícero, 2003), sementes de *Peltophorum dubium* (Oliveira et al., 2003), *Tabebuia serratifolia* e *T. impetiginosa* (Oliveira et al. 2004), *Eremanthus incanus* e *E. erythropappus* (Tonetti, 2004), *Eugenia handroana* (Masetto, 2005) e espécies de lauráceas (Carvalho, 2006).

Aliada à técnica de raios X, tem-se a possibilidade de efetuar a análise de imagens em computador, usando programas de análise de imagens, que permitem uma melhor visualização dos danos internos nas sementes. As mesmas podem ser examinadas individualmente em imagens capazes de indicar, com detalhes, a área danificada, a localização e a extensão do dano. As sementes podem ainda ser submetidas a testes fisiológicos e, dessa forma, permitir o estabelecimento de relações entre os danos e os prejuízos causados à qualidade das mesmas (Cícero & Banzatto, 2003).

A hipótese do presente trabalho foi a de que a quantificação dos danos ou modificações internas ocasionadas nas sementes pela dessecação, utilizando-se a análise de imagens de raios X pode servir como parâmetro para a avaliação da qualidade do lote de sementes de canela-batalha. Os objetivos foram verificar, em graus de umidade pré-estabelecidos, as alterações morfológicas internas ocasionadas pela dessecação, a influência da infestação de larvas de insetos nas sementes, bem como a consequência desses fatores na formação de plântulas.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos diásporos

Frutos de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. foram colhidos de três árvores nas proximidades do campus da UFLA logo após a dispersão, em março de 2007. Efetuada a despolpa por maceração em peneira de malha de aço sob água corrente, os diásporos foram deixados sobre as mesmas, em camada única, à sombra, até que perdessem a água superficial. Posteriormente, foram acondicionados em bandejas plásticas, também em camada única, e levados para sala climatizada (20°C/60%UR). Os estudos foram realizados no Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Teste de umidade

O teor de água dos diásporos foi determinado em estufa (103±2°C por 17 horas), conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foram utilizadas 4 repetições de 5 diásporos seccionados em várias partes com tesoura de poda. Os valores foram expressos em porcentagem, com base no peso úmido das sementes.

Secagem dos diásporos

Para determinar o efeito da secagem sobre a viabilidade das sementes, os diásporos foram secos, inicialmente em sala climatizada (20°C/60%UR) e, a partir da terceira semana, foram colocados em um “higrostat”, que consiste em uma caixa de madeira com tampa e circulação de ar interna, provida por um pequeno ventilador que possibilita a homogeneização da umidade relativa dentro da caixa. Os diásporos são espalhados em camada única sobre uma tela removível colocada a cerca de 20 cm acima do fundo da caixa, o qual contém uma bandeja plástica com solução saturada de hidróxido de sódio. A umidade

relativa no interior do “higrostat”, proporcionada pelo hidróxido de sódio, ficou em torno de 28%. Com base na curva de dessecação e germinação da espécie descrita por Tonetti (2000), foram pré-determinados alguns graus de umidade desejados para avaliação (45%, 37%, 35%, 31% e 26%). Para determinar os pontos de umidade pré-estabelecidos realizaram-se pesagens sucessivas, com base no peso inicial utilizando-se a expressão (Sacandé et. al., 2004):

$$\text{Peso (g) correspondente à umidade desejada} = \frac{(100 - \text{Umidade inicial}) \times \text{Peso inicial}}{(100 - \text{Umidade desejada})}$$

Os diásporos foram pesados semanalmente para o controle da umidade, determinada por meio da expressão descrita acima. Após a determinação do grau de umidade, foram retiradas amostras para o teste de umidade, conforme as RAS (Brasil, 1992), teste de raios X e teste de germinação.

Testes de raios X

Para a obtenção das radiografias, utilizou-se o equipamento Faxitron HP, modelo 43855AX. O filme radiográfico utilizado foi o Kodak Min-R 2000, com dimensões de 18 x 24cm. Com base nos resultados de pré-testes, foram definidos a intensidade de 40 KVp e o tempo de 1,5 minuto como os melhores para a obtenção das imagens. Utilizaram-se amostras aleatórias de 256 diásporos que foram dispostos em pequenas bandejas plásticas com 8 canaletas cada, sendo 4 diásporos por canaleta, num total de 8 bandejas por amostra (Figura 1-A). Os diásporos foram radiografados no momento em que atingiam os graus de umidade pré-definidos.

Classificação das sementes de acordo com a análise das radiografias

A cada ponto de umidade, as imagens foram analisadas e os diásporos classificados e separados nas categorias: sementes intactas (SI), com afastamento parcial (SAP), com afastamento total (SAT) e sementes predadas (SP). Para o cálculo do percentual de infestação foram consideradas 4 repetições de 32 sementes em cada grau de umidade considerado.

Testes de germinação

Após a análise das radiografias, os diásporos classificados por categorias foram submetidos ao teste de germinação. Para tanto, foram lavados, por dez minutos, em hipoclorito de sódio 1%, enxaguados em água corrente e distribuídos entre areia lavada e autoclavada em bandejas plásticas (36,5 x 26,0 x 6,5cm), em 4 repetições de 25 sementes. As bandejas foram levadas para os germinadores tipo Mangelsdorf, a 25°C e luz constante. A avaliação da germinação foi realizada semanalmente e o critério de germinação considerado foi a formação de plântulas normais, segundo as RAS (Brasil, 1992). Ao final do teste, foram computadas plântulas normais, anormais, sementes duras e sementes deterioradas. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais e a velocidade de germinação calculada pelo Índice de velocidade de germinação (IVG), proposto por Maguirre (1962).

Análise das imagens

As radiografias (Figura 1-A) foram fotografadas com máquina digital, com resolução de 12 megapixels e as imagens transferidas para computador, com o uso do programa Adobe Photoshop® 7.0, foram feitas quatro medidas dos afastamentos entre o endocarpo e a semente (Figura 1-B). Para cada ponto amostrado, foram medidos os afastamentos em 100 sementes. As medidas, obtidas em pixels pelo programa, foram convertidas em centímetros, com base

na largura (conhecida) das bandejas utilizadas como suporte das sementes durante o teste de raios X.

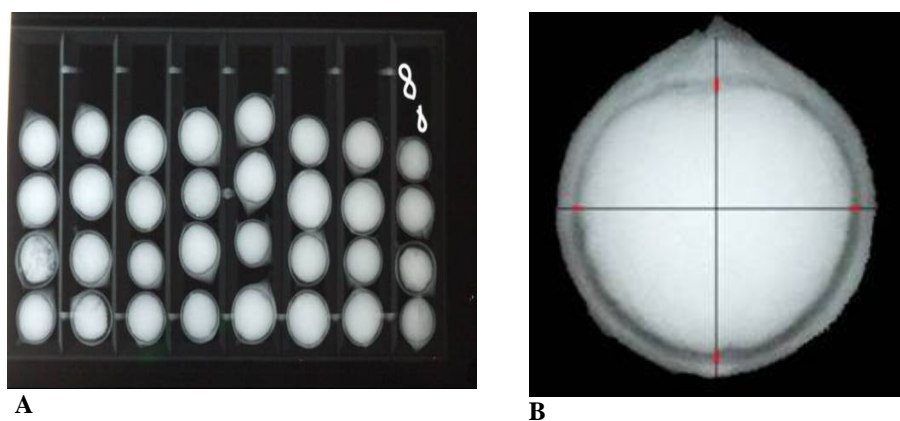


FIGURA 1. A- radiografias dos diásporos; B- localização das medidas do afastamento entre endocarpo e semente (em vermelho), efetuadas em sementes de *Cryptocarya aschersoniana*, utilizando-se o programa Adobe Photoshop® 7.0.

Curva de embebição

Para a obtenção da curva de embebição, 40 diásporos foram numerados e dispostos em bandejas plásticas sobre duas folhas de papel toalha (tipo germitest), saturadas com água destilada. Sobre os diásporos colocou-se um papel toalha umedecido para manter a homogeneidade da umidade. As bandejas foram colocadas em germinador tipo Mangelsdorf, a 25°C. O controle da umidade nas bandejas foi realizado diariamente. Nas primeiras 72 horas, efetuaram-se três pesagens diárias dos diásporos, individualmente, com balança analítica e, a partir daí, uma leitura diária, até o 22º dia, quando as leituras passaram a ser semanais, até que fosse observada a protrusão radicular.

Análise dos dados

Todos os experimentos tiveram delineamento inteiramente casualizado e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade com o uso do *software* Statistical Assistance Software - ASSISTAT (Silva & Azevedo, 2006). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Secagem dos diásporos

O processo de secagem inicialmente foi bastante lento e, assim, optou-se por submeter os diásporos a um ambiente menos úmido em relação ao da sala climatizada. Porém, mesmo na caixa de secagem, o tempo necessário para a obtenção dos pontos requeridos não diferiram consideravelmente dos obtidos na curva de dessecação observada por Tonetti (2000), em sala climatizada (20°C/60%UR). Estes apresentaram uma variação de ± 2 pontos percentuais acima ou abaixo em relação à curva do trabalho anteriormente citado. Foram necessários 71 dias para que os diásporos atingissem 26% de umidade, o que pode estar relacionado à resistência do endocarpo. Hirano (2003), trabalhando com diásporos da mesma espécie, em ambiente natural, a 22°C e umidade relativa de 68%, obteve sementes com 31% de umidade, aos 60 dias e 28,5% de umidade, aos 165 dias.

Curva de embebição

A curva de em bebição (Figura 2) seguiu o padrão trifásico proposto por Bewley & Black (1994), sendo a fase I, denominada embebição, caracterizada pela rápida absorção de água, consequência do potencial matricial e que pode

ocorrer independente da viabilidade e da dormência das sementes, exceto quando se tratar de dormência por impermeabilidade do tegumento à água. Embora Carvalho & Nakagawa (2000) relatem que a fase I seja relativamente rápida com duração de uma ou duas horas, a fase de embebição no presente trabalho ocorreu nas primeiras 72 horas. No entanto, os mesmos autores consideram que a velocidade de embebição está na dependência de outros fatores como a espécie, a natureza e a composição do tegumento.

A fase II é estacionária e ocorre em função do balanço entre o potencial osmótico e o potencial de pressão. Nesta fase, a semente absorve água lentamente e o eixo embrionário ainda não consegue crescer. Neste trabalho, a fase II teve duração de 89 dias.

Almeida (2001) descreve o processo de embebição das sementes como importante procedimento técnico para auxiliar na identificação da especificidade de dormência, sobretudo quando associado à dureza e à impermeabilidade de tegumento. O mesmo autor indica, como possíveis causas da dormência para a espécie *Cryptocarya aschersoniana*, a impermeabilidade do endocarpo à água e/ou resistência mecânica do mesmo ao crescimento do eixo embrionário.

O comportamento observado após as sementes atingirem a estabilidade na fase II, que foi caracterizada por um longo período, provavelmente está relacionado à dormência embrionária, conforme sugerido por (Davide et al., 1999; Carvalho, 2000), ou a resistência mecânica do endocarpo ao crescimento do eixo embrionário (Almeida, 2001).

Aos 89 dias, teve início a fase III, na qual ocorre o novo aumento no peso fresco das sementes, com a emissão de raiz primária.

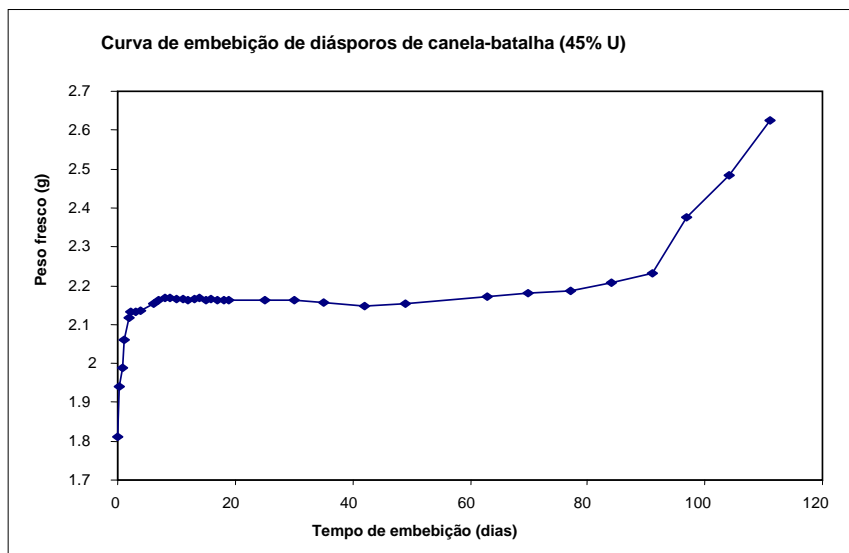


FIGURA 2. Curva de embebição dos diásporos (teor de água inicial de 45%) de *Cryptocarya aschersoniana*.

Análise das radiografias

Sementes recém-colhidas, com 45% de umidade, formam uma imagem densa e contínua, sem separação visível destas com o endocarpo (Figura 3-A). Entre 37% e 26% de umidade, foi possível observar e dimensionar a linha de separação que é formada entre o endocarpo e a semente, causada pela dessecação (Figura 3 B a F).

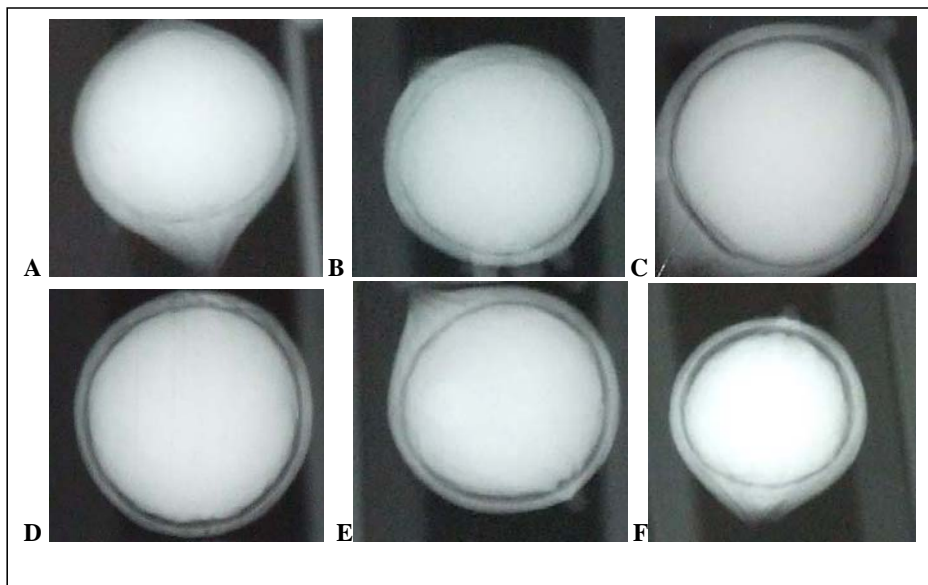


FIGURA 3. Sementes de *Cryptocarya aschersoniana* classificadas pela análise radiográfica, de acordo com a anatomia interna em: A - semente intacta (45% U), B - semente com afastamento parcial (37%U), C - semente com afastamento parcial (35%U), D - semente com afastamento total (35%U), E - semente com afastamento total (33%U) e F - semente com afastamento total (26%U).

Com os resultados obtidos, verifica-se que o afastamento médio observado, entre 0,16 mm até próximo de 0,44 mm (31%U), não implicou em queda da germinação. Ao contrário, a partir de 0,26 mm (35% U), observou-se um incremento no poder germinativo. A partir de 0,65mm de afastamento, com as sementes com 26% de umidade, houve redução significativa no percentual de germinação (Figura 4).

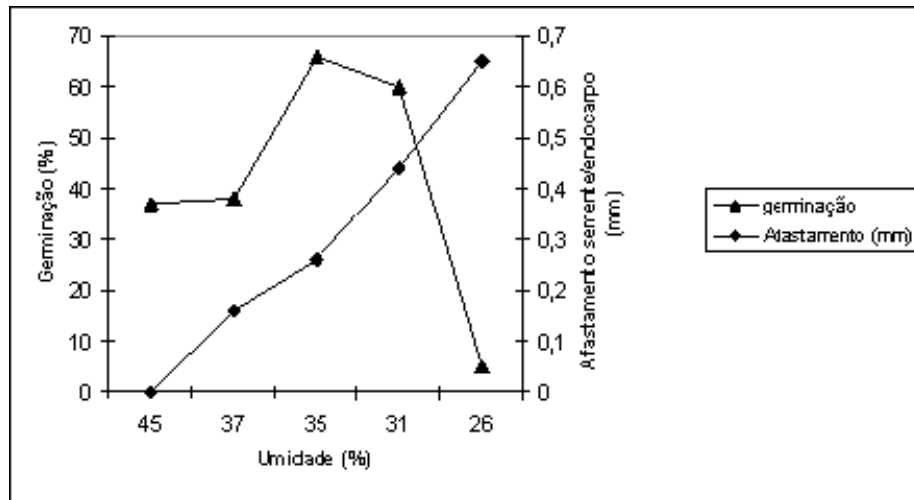


FIGURA 4. Germinação (%) e afastamento da semente em relação ao endocarpo (mm) dos diásporos de *Cryptocarya aschersoniana* nos diferentes graus de umidades estabelecidos. Regressões (Germinação: $y = -10,429x^2 + 58,371x - 19,2$ $R^2 = 0,7365$; Afastamento: $y = 0,3756\text{Ln}(x) - 0,0577$ $R^2 = 0,9$).

O termo nível crítico de umidade define o limite acima do qual a semente pode ser dessecada, sem dano aparente (Walters, 2000). Resultados obtidos por Davide *et al.* (1999), para a espécie em questão, consideram o valor em torno de 20% como o grau letal de umidade, quando, então, ocorre a perda total da viabilidade. Os resultados aqui observados coincidem com os de Hirano (2003) em pesquisas realizadas sobre a dessecação e o armazenamento de canela-batalha, considera que o nível crítico de umidade esteja entre 31,1% e 27,5% e que o nível letal esteja abaixo de 25,8% a 22,8% de umidade.

Goodman *et al.* (2005), em estudos realizados sobre as aplicações da análise de imagens de raios X para avaliar a viabilidade em sementes de carvalho do norte (*Quercus rubra* L.), quantificaram os danos ocasionados pela redução do teor de umidade nos cotilédones desta espécie. Os autores

concluíram que a técnica é um melhor indicador da qualidade do lote, comparado com o teste de umidade. Os mesmos autores, em trabalhos correlacionados sugerem esse teste para espécies com sementes recalcitrantes grandes (Goodman et al., 2006).

Com os resultados obtidos, observa-se que médias de afastamento entre a semente e o endocarpo até próximo a 0,43 mm (31%U) , indicam melhoria nos índices de germinação e sugerem quebra de dormência fisiológica destas sementes. A partir de 0,65 mm (26% U) as sementes estão em grau crítico de umidade para a espécie e, portanto com baixa qualidade do lote.

Neste trabalho, evidencia-se que a análise de radiografias, por meio de *softwares* que possibilitem uma melhor visualização e o dimensionamento de danos em sementes, é bastante eficiente, considerando-se que é um método rápido e exato para avaliar o lote, em comparação com os demais métodos.

Testes de germinação

O experimento teve duração total de 165 dias. Os resultados encontrados neste trabalho coincidem com os obtidos por Davide et al. (1999) e Tonetti (2000), quando observaram, em *Cryptocarya aschersoniana*, um aumento na porcentagem de germinação após a secagem das sementes para um valor próximo de 35% de umidade. Os maiores percentuais de germinação no presente trabalho foram observados quando as sementes tiveram seu teor de água reduzido entre 35% e 31%, ocorrendo o mesmo com o índice de velocidade de germinação (Figura 5). A mesma tendência foi observada com relação à formação de plântulas normais (Figura 6), reforçando a hipótese da quebra de dormência fisiológica com a secagem dos diásporos.

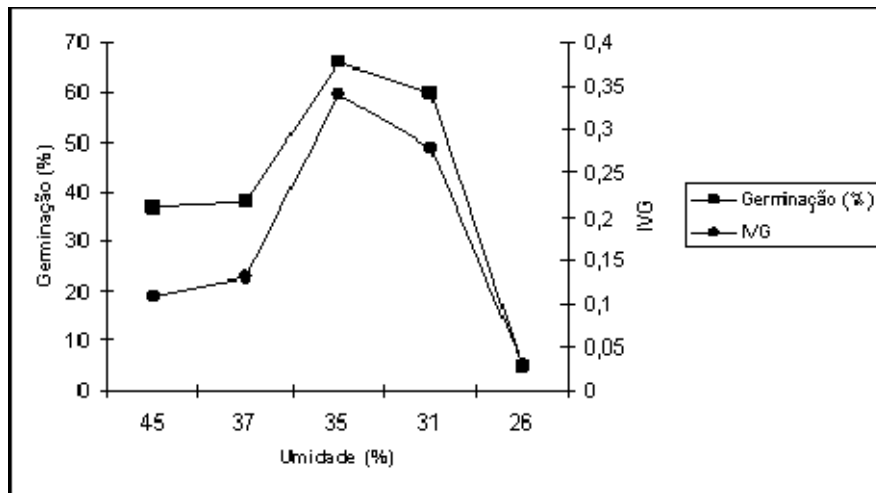


FIGURA 5. Percentual de germinação e índice de velocidade de germinação dos diásporos de *Cryptocarya aschersoniana* nos diferentes graus de umidades estabelecidos. Regressões(Germinação: $y = -10,429x^2 + 58,371x - 19,2$ $R^2 = 0,7365$; IVG: $y = -0,0579x^2 + 0,3461x - 0,224$ - $R^2 = 0,7159$).

De acordo com Baskin & Baskin (1998), sementes de espécies da família Lauraceae apresentam dormência fisiológica. Outras espécies, como *Aspidosperma cylindrocarpon*, *Tabebuia impetiginosa* e *Tabebuia serratifolia*, também têm comportamento semelhante, como relatado por Carvalho (2000), ao observar um aumento do poder germinativo para sementes submetidas à secagem (20°C/60%UR) até o equilíbrio higroscópico. Não houve diferença estatística nos índices de germinação e IVG entre as categorias sementes com afastamento parcial (SAP) e com afastamento total do endocarpo (SAT) nas amostras 31% de umidade (Tabela 1). Observa-se, portanto que a classificação quanto ao afastamento nesse grau de umidade não tem correspondência com a viabilidade das sementes.

Ao final do teste de germinação (165 dias), nos graus de umidade de 45% e 37%, foi observado alto percentual de diásporos duros, acima de 50%, reduzindo a seguir entre 35% e 31% de umidade (Tabela 1).

TABELA 1. Percentual de diásporos duros e deteriorados ao final do teste de germinação, nas categorias: sementes intactas (SI), sementes com afastamento parcial (SAP), sementes com afastamento total (SAT) e plântulas normais de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana*), nos diferentes graus de umidades amostrados.

Umidade (%)	Classes	Diásporos		Plântulas normais
		Duros	Deteriorados	
45	SI	58 b	5 ab	29 ab
37	SAP	57 b	5 ab	30 ab
35	SAP	5 d	29 a	61 a
31	SAP	22 cd	20 ab	52 a
31	SAT	19 cd	22 ab	51a
26	SAT	95 a	0	5 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



FIGURA 6. Plântulas de *Cryptocarya aschersoniana* obtidas ao final do teste de germinação.

Infestação

As sementes de canela-batalha são atacadas por insetos pertencentes à ordem Coleoptera, família Curculionidae, que se desenvolvem no interior dos diásporos. Apesar do elevado teor de umidade (45,21%), foi possível visualizar as galerias formadas pelas larvas do inseto (Figura 7). Pode-se determinar, nas amostras observadas com este grau de umidade, que 17,2% sementes estavam infestadas. As sementes classificadas como predadas, nas amostras com 45% e 37%, umidade foram colocadas para germinar, obtendo-se 5% de germinação para as recém-colhidas e 0% para as sementes com 37% de umidade. Verifica-se, assim, que a presença das larvas afeta significativamente a germinação, diminuindo a qualidade do lote.

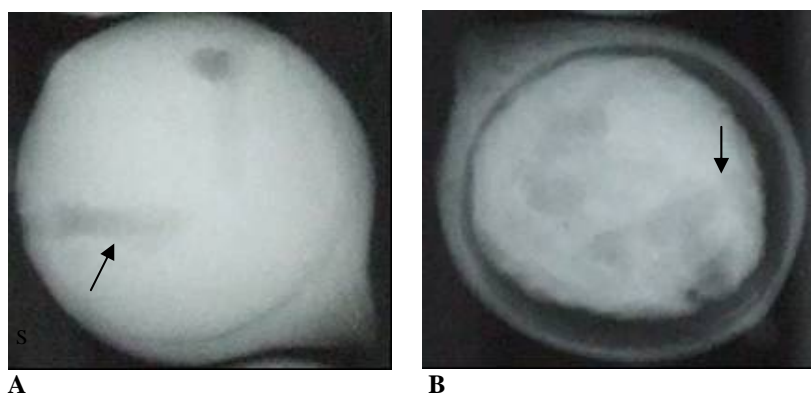


FIGURA 7. Sementes de *Cryptocarya aschersoniana* predadas por insetos. Visualização das galerias efetuadas pela larva do inseto: A- 45% de umidade e B – 33% de umidade.

O ataque desse inseto também foi observado em sementes de outras espécies da família Lauraceae, como, *Nectandra nitidula*, *Nectandra lanceolata* e *Nectandra grandiflora* (Carvalho, 2006), em *Aniba roseodora* (Rosa e Ohashi, 1999), além da própria *Cryptocarya aschersoniana* (Almeida, 2001).

Segundo Carvalho (2006), a importância da detecção de sementes infestadas está na possibilidade do descarte das mesmas, melhorando a qualidade do lote, o que contribui para a conservação das sementes durante o armazenamento, evitando, assim, a transferência de insetos para outras regiões.

Para a espécie estudada, o teste de raios X na intensidade de radiação utilizada, em todos os níveis de amostragem efetuados, mostrou-se bastante eficaz na avaliação da infestação, sendo, portanto, possível efetuar a melhoria do lote por meio do descarte das sementes com danos ocasionados pela infestação, logo após a colheita.

CONCLUSÕES

- Em sementes de *Cryptocarya aschersoniana*, o uso do teste de raios X ajustado em 40 Kvp e 1,5 minuto de exposição mostrou-se eficaz para a avaliação da infestação e de danos ocasionados por secagem .
- Em *Cryptocarya aschersoniana*, o afastamento entre a semente e o endocarpo até o valor de 0,43 mm (31%U) é indício de melhoria dos índices de germinação. Acima deste valor de afastamento, a qualidade é afetada negativamente e, ao atingir 0,65 mm (26%U), a germinação não ocorre mais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L.P. de. **Germinação, crescimento inicial e anatomia foliar de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. sob diferentes níveis de radiação.** 2001. 96p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination.** San Diego: Academic Press, 1998. 666p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; BURG, W.J. van der. Non-destructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v.3, n.2, p.67-170, June 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília, 1992. 365 p.
- CARVALHO, L.R. de. **Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento.** 2000. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, L.R. de. **Conservação de sementes de espécies dos gêneros *Nectandra*, *Ocotea* e *Persea* (Lauraceae).** 2006. 75p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CÍCERO, S.M.; BANZATTO JUNIOR, H.L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.25, n.1, p.25-28, jun. 2003.
- DAVIDE, A.C.; CARVALHO, L.R.C.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M. Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais pertencentes à família Lauraceae quanto à capacidade de armazenamento. **Cerne**, Lavras, v.9, n.1, p.29-35, 2003.

DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R.; BOTELHO, S.A. **Propagação de espécies florestais**. Belo Horizonte: CEMIG/UFLA/FAEPE, 1995. 41p.

DAVIDE, A.C.; TONETTI, O.A.O.; CARVALHO, L.R. Efeitos da dessecação na viabilidade de sementes de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* Mez – Lauraceae). **Informativo ABRATES**, Brasília, v.9, n.1/2, p.175, jul./ago.1999.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, London, v.41, n.230, p.1167-1174, Sept. 1990.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

GOODMAN, R.C.; JACOBS, D.F.; KARRFALT, R.P. Evaluating desiccation sensitivity of *Quercus rubra* acorns using X-ray image analysis. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.5, n.12, p.2823-2831, Dec. 2005.

GOODMAN, R.C.; JACOBS, D.F.; KARRFALT, R.P. Using X-ray image analysis to assess the viability of northern red oak acorns: implications for seed handlers. In: RILEY, E.; DUMROESE, K.R.; USDA Forest Service. **Proceedings...** RMRS-P-43. 2006.

LANDIS, T.D. (Coord). **National proceedings: Forest and Conservation Nursey Association - 2005**. Asheville: USDA Forest Service, 2006. p.143-146. (USDA. Forest Service, RMRS-P-43). Disponível em: <http://www.fs.fed.us/rm/pubs/rmrs_p043/rmrs_p043_143_146.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2008.

HIRANO, E. **Maturação fisiológica, tolerância à dessecação e conservação de sementes de lauráceas da mata de araucária de Santa Catarina**. 2004. 143p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **Seed science and technology**. Zürich, 2004. 180p.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **Seed science and technology**. Zürich, 1999. 333p. Supplement.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352p.

MAGUIRRE, J.D. Speed of germination-aid seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, Mar./Apr. 1962.

MACHADO, C.F.; CÍCERO, S.M. Aroeira-branca (*Litthraea molleoides* (Vell.) Engl. – Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.2, p.393-397, abr./jun. 2003.

MASETTO, T. E. **Estudos da sensibilidade à dessecação em sementes de *Eugenia handroana* D. Legrand (Myrtaceae)**. 2005. 60p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MORAES, P.L.R.; ALVES, M.C. Biometria de frutos e diásporos de *Cryptocarya aschersoniana* Mez e *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Biota Neotropica**, São Paulo, v.2, n.1, p.39-49, 2002.

OLIVEIRA, L.M de. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. E *T. impertiginosa* (Martius Ex. A. P. de andolle) Standley pelo teste de raios-X. In: _____. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. E *T. impertiginosa* (Martius Ex. A. P. de andolle) envelhecidas natural e artificialmente**. 2004. p.71-85. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, L.M. de; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.25, n.1, p.116-120, jul. 2003.

OLIVEIRA, L.M. de; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M.; MASETTO, T.E. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley – (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.26, n.2, p.138-143, dez. 2004.

PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to dessication tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v.9, n.1, p.13-37, Mar.1999.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.3, p.449-514, 1973.

ROSA, L. dos S.; OHASHI, S. T. Influência do substrato e do grau de maturação dos frutos sobre a germinação do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, n.31, p.49-55, jan./jun. 1999.

SACANDÉ, M.; JOKER, D.; DULLOO, M.; THOMSEN, K.A. (Ed.) **Comparative storage biology of tropical tree seeds**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. 363p.

SILVA, F. de A.S. e; AZEVEDO, C.A.V. de. A new version of ASSISTAT – Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., Orlando, 2006. **Proceedings...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. (Ed.). **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991. p.14-28.

TONETTI, O.A.O. **Melhoria da qualidade física e estudo da germinação de sementes de candeia (*Eremanthus incanus* (Less.) e *Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac. Leish)**. 2004. 81p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TONETTI, O.A.O. **Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* - MEZ)**. 2000. 22p. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WALTERS, C. Levels of recalcitrance in seeds **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.2, p.7-21, dez. 2000. Edição especial.